

特発性大腿骨頭壊死症の発生メカニズムに関する動物モデルの確立

報告者：大阪大学整形外科
高岡邦夫・中田活也
増原建作・菅野伸彦

〔伊丹〕午前中は大変有意義なお話と討論が活発に行われまして、大変愉快だったのでございますが、午後は研究助成金による研究成果報告をしていただこうと思います。これは皆さんご存じのように、股関節財団といいますのは、股関節研究振興財団でありまして、毎年、優秀な研究計画に対しまして、選考の結果、何人かを決めて、研究費を差し上げているわけございまして、毎年大変立派な研究が行われております。ことしも昨年差し上げて研究をしていただきました。その成果をこれからご発表いただくと思います。

まず最初に、大阪大学の高岡先生ですが、「特発性大腿骨頭壊死症の発病メカニズムに関する動物モデルの確立」ということです。どうぞよろしく願います。

〔高岡〕伊丹先生には研究の助成をいただきまして、御礼を申し上げたいと思います。

私のテーマは大腿骨頭壊死症であります。先生方ご存じのとおり、特発性大腿骨頭壊死症というのは、臨床的にはステロイド剤投与歴、あるいはアルコール愛飲等の背景があることがわかっておりますが、いまだに正確な発症メカニズム、あるいは病因病態というものについては不明であります。そのメカニズムがわからないと、病気の合理的治療や予防という方向へ進めないわけで

あります。また近い将来、外科の領域で臓器移植がポピュラーになってくるはずですが、それに伴う整形外科領域の合併症の一つとしまして、特発性大腿骨頭壊死症は大いに研究し、その予防に当たらなければならないであろうというのが我々の問題意識であります。

そこで、その発症メカニズムを研究するに当たりまして、本疾患の動物モデルが欲しいというのが当然の願いであり、それをつくる努力をしてきました。従来、長い年月にわたりまして、ステロイド投与による本疾患の動物モデルをつくる努力が世界で広く行われましたけれども、いまだに満足すべきものはありません。そこで我々は従来の発想を変え、つまり、ステロイドが本疾患の主因ではなくて、ステロイドを投与しなければいけなくなった背景疾患に骨壊死発生の主因があるのではなからうか、つまり、免疫反応、免疫異常というのがその背景にあるのではなからうかという発想で、動物モデルの作成に入ったわけであります。

我々のモデルは1990年に松井がまず発表したモデルです。簡単にいいますと、ウサギにウマの血清を3週間隔で2回投与するというモデルであります。

そうしますと、骨髄壊死が多発性に高頻度起こるといことがわかりました。

これはウマの血清を2回投与後の1週間後の大腿骨近位部の骨幹端の像であります。明らかな骨壊死が起きております。(図1)

すなわち骨梁にもempty lacunaeがみられます。それから、修復反応も起こりつつあります。(図2)

2回目の血清投与後の1日目の組織像であります。超早期に起こっている変化は骨髓内の出血像です。(図3)

血管内には血栓の形成が見られ、その周辺にextravasation、つまり出血が起きております。

つまり、末梢レベルでの血管系の破綻がこのモデルの超早期の像の特徴です。



図1

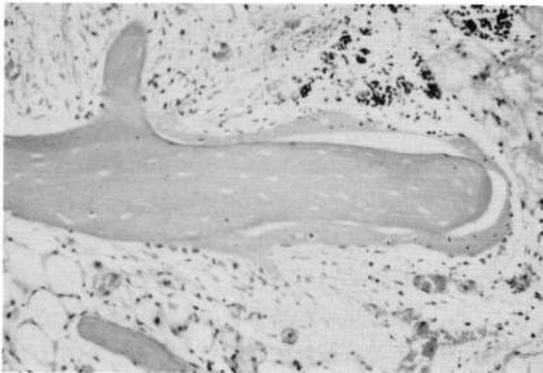


図2

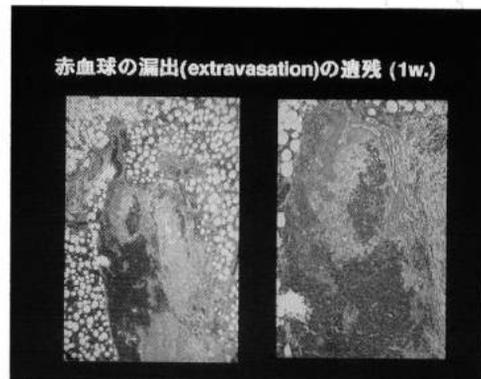


図3

そこで今回は、ウマ血清の投与によってできたであろうところの免疫複合体と骨の壊死病変との関連性というのを追求しました。

方法は、ウマ血清を2回投与して、投与後、時間を追って屠殺して、大腿骨近位部の骨髓の中の変化を観察しました。

観察期間は2回目の血清投与から1時間から3日であります。

組織学的検索は、染色切片での壊死の判定のみならず、今回はフィブリン染色としまして、PTAH染色というのを追加して行いました。

免疫学的な検索、つまり、免疫複合体の

確認にはABC法を用いて行いました。

検索の対象のラビットIgG、とウマのIgGです。両者が同時に同じ部位にあればそこに免疫複合体が存在するという証拠になるわけです。(図4)

結果であります。

超早期の大腿骨近位の骨幹部には壊死が高頻度で起こるところであります、そこに起こっている変化は、血管系の破綻によるところのextravasation、細動脈内の血栓の形成、免疫複合体の血管壁の沈着であります。(図5)

大体2回目のウマ血清投与から既に1時間か4時間でそのような変化が起こってお

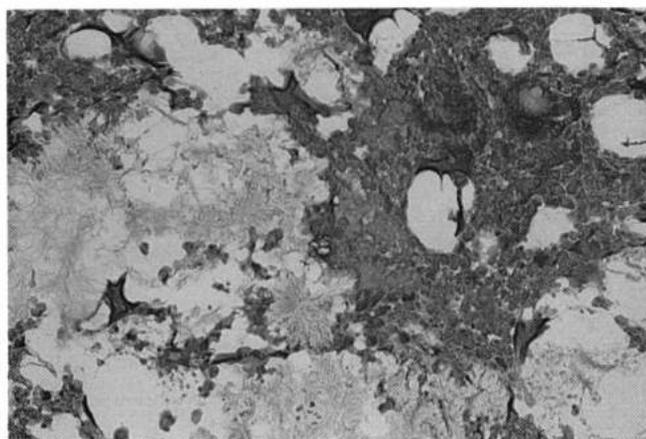


図4

骨壊死の頻度 (ウマ血清2回目投与後1週間)	
骨髓壊死	45%
骨梁壊死	30%

図5

りまして、その発生頻度は72時間では40%以上にextravasationが観察できました。

(図5)

これはフィブリン染色をしたものですが、PTAH染色で明らかに陽性であります。つまり、血栓の形成が確認できました。

(図6, 7)

血栓の形成とその部位での出血の相関を見たのがこのスライドであります。ごらんのように、extravasationが起きているところでは、細動脈レベルでの血栓の形成が高頻度に行っているということがわかります。

さて、免疫複合体の沈着は2回目のウマ

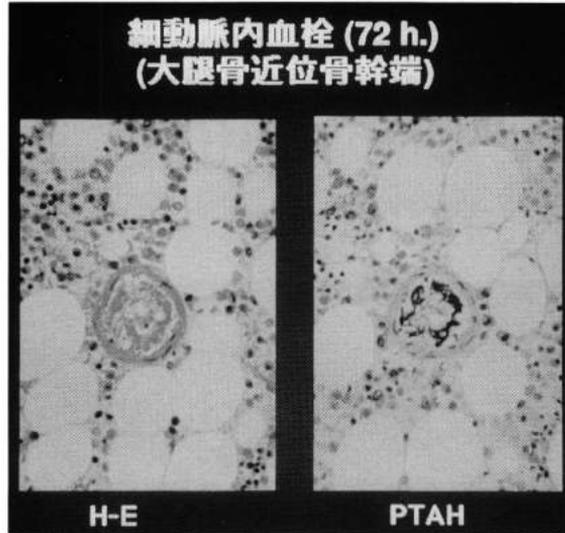


図6

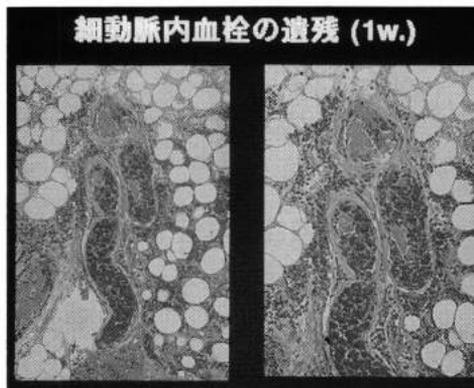


図7

血清投与から48時間後の標本でみると、血管壁にラビットに対する抗体、ウマ血清に対する抗体、が両者が存在します。つまり、免疫複合体が骨髓の中、あるいは血管の周辺に多く沈着しているというのがわかります。(図8)

ここで注目したいのは、extravasationが起こっている部位に免疫複合体の沈着が著明に見られるという点であります。(図9)

すなわち免疫複合体の沈着が起こっているところにextravasationが起こる頻度は67%と高頻度です。免疫複合体の沈着と血管系の破綻というのの相関がうかがえました。

この実験モデルにおきましては、免疫学で言うところのArthus反応を人為的に起こしているわけですが、これによってⅢ型アレルギーと言われる反応が起こり、血管に炎症性的変化が起こり、二次的に血管損傷が起こっているモデルと考えられます。

目下、この動物における骨壊死発生のメカニズムについて研究が進みつつあるわけですが、現時点で推測される骨壊死発生のメカニズムは、骨髓内に免疫複合体が沈着しますと、補体の活性化、あるいは好中球が集まり、あるいは血小板の凝集が高まる、また、血管の透過性が亢進したり、あるいは血管内皮細胞の損傷が起こって、骨の微細循環が障害を受けまして、その結果、阻

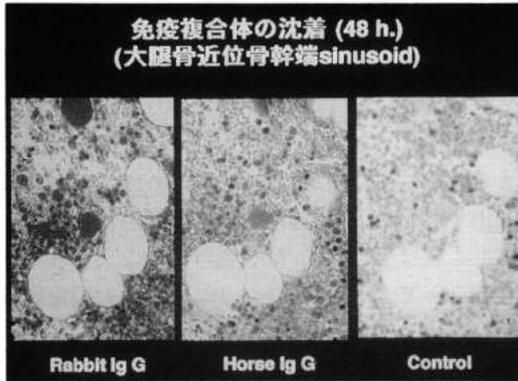


図8

**sinusoidへの免疫複合体の沈着
と
赤血球のextravasation**

		赤血球のextravasation	
		+	-
免疫複合体 の沈着	+	8 (67%)	4 (33%)
	-	0 (0%)	4 (100%)

Fisher's test : $p=0.0385$

図9

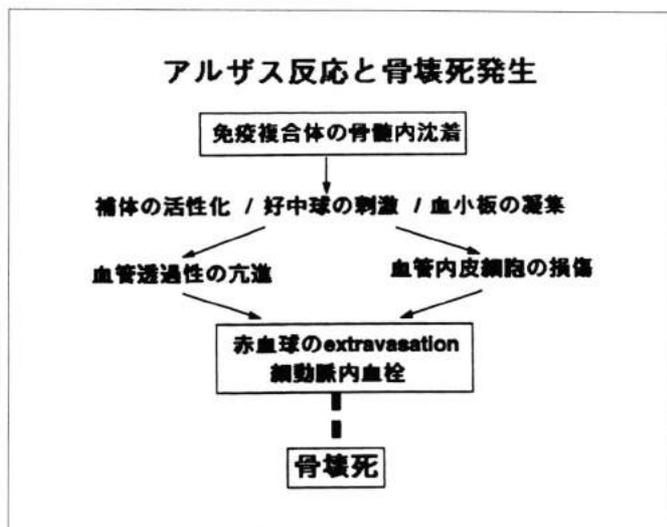


図10

血性の骨壊死がおこる。こういうメカニズムがぼんやりと浮かび上がっております。

(図10)

免疫複合体の沈着が起こりますと、それに続いて赤血球の血管外への漏出すなわち、extravasationがおこりますが、これは多分、毛細動脈内の血栓によって起こってきた二次的な変化だろうと考えられます。

当然ながら、この動物モデルがヒトの大腿骨頭壊死症のモデルというわけにはいきません。今後残された問題としましては、幾つかありますが、主として三つあると考えられます。

一つは、こういう免疫複合体の沈着が起こるとなぜ血管壁の損傷が起こるかという問題です。そこに局所的に炎症反応が起こるわけですが、炎症反応を起こしていると言われているサイトカイン、例えばTN- α 、あるいはIL1、IL6というような炎症性のサイトカインのうちどれが血管のダメージに最も影響しているか。あるいはplatelet activating factor(PAF)ですが、こういうものがどう反応するかという問題。

第2番目に、このモデルにおいて、従来

臨床で言われておるところのステロイド、あるいはアルコールというのがこういう反応をどんなふうに修飾するか、それが壊死の発生の起こりやすさにどうかかわっているかという問題があります。

第3番目に、こういう免疫学的な異常がサブクリニカルに大腿骨頭壊死症の患者さんに共通して存在しているかどうかという問題であります。大園先生が発表しましたように、特発性大腿骨頭壊死症と言われる患者さんの臨床データを見ますと、どうも自己抗体を持っている頻度がかかなり高い。これはサブクリニカルなものも含めてですが、それからIgG レベルが高い患者の頻度がかかなり高いという観察、それから従来言われておりますように、腎移植後の骨髄壊死の発生率が高い、あるいはSLE、これは自己免疫疾患ですが、こういう病気でステロイドを投与すると壊死が起こりやすいということがわかっております。したがって、我々が今考えておりますのは、ステロイド、あるいはアルコールそのものが一義的な大腿骨頭壊死症の原因因子ではなくて、その背景にあるところの免疫学的な

異常、これはサブクリニカルなものも含めてですが、これが一義的に重要なのではな

かろうかということがこのモデルから推測しています。

◆ 討 論 ◆

〔伊丹〕ありがとうございました。何かご質問、こういうことを聞いてみたいということはございませんでしょうか。大腿骨頭壊死症の発病モデル、これはArthus反応ですから、全身的なものでございますね。

〔高岡〕はい。

〔船山〕仙台赤十字の船山です。

最初に、たしか骨頭壊死症の研究班の初期のころに、慶応大学の方で、多少免疫・コンプレックスによる実験モデル作成をなさっていたことがあるように記憶しているのですけれども、その辺の関係は先生はご存じ……。

〔高岡〕それはちょっと私は記憶にないのですけれども。

〔船山〕慶応大学の病理の先生が、先生の今お示しいただいたような吟味した形ではなくて、かなりイッペンリンギナリーな感じでありましたけれども、泉田前教授ですね。ジュニアでなくて、シニア、慶応大学病理の先生がなさっていたことがあります。その点ちょっと思い出しました。

もう1点は、ケイソンディジーズというのがあって、骨髄壊死が発生しますが、ケイソンディジーズというのは、エアバブルが血管をとめて、その結果、イスキミンをつくるのではなくて、血管内にエアが入ると、ターミナルイーティーか何か末梢が変わってきて、先生がお示しになったようにextravasationが起きて、その結果、血管内にトロンボシスを多発する、そういう仕事を、カワシマ先生でしたか、九州の先生が以前かなり追求なさって、発表されたことがあるように記憶しております。参考になりますかどうか。

〔二ノ宮〕骨壊死症を実験的につくるための努力が世界中でやられまして、ことごとく失敗してきたわけですが、遂に肉眼的に

確認できる骨壊死が証明されたというのを大変喜んでいますが、例えば臨床的に、さっきステロイドのことをちょっと言われていましたが、ステロイドと一緒にやってみて、そのシンシヨクを見るという実験はまだやっていないのでしょうか。

〔高岡〕それは今計画中でして、きょう来ていますが、中田先生が今やっている最中です。先生ご存じのとおり、九大で最近LPS投与による骨壊死を出しておられますが、その場合はステロイドをやると骨壊死の発生頻度が急激に上がるということを出していますので、多分ステロイドというのはそういう血管に対するダメージを非常に強める作用があるのではなからうかと考えます。

〔二ノ宮〕免疫反応を抑えるという単純なことではなくて、別な要素で悪い働きをする。

〔高岡〕あるいは血液凝固性を高めるという可能性もあるのではなからうかと考えます。

〔岩崎〕このようなことを基礎分野の先生方とよく話しますと、全身状態がどうもよ過ぎると言います、壊死を起こしている患者さんが。だから、サブクリニカルでもいいのですが、全身的に物すごく何か問題がある人が骨頭壊死を起こすのだったら、何か探るけれども、ちょっと見ると、なかなか元気じゃないかと言っているのも、そこらあたりでなかなかあれですけど、先生が今考えておられる、サブクリニカルにしろ、クリニカルにしろ、何か全身的なものがあろうかということをおっしゃったということですね。

〔高岡〕そのとおりです。それと、もう一つは骨壊死というのは、我々は以前からレントゲン像で骨壊死を診断しようとしてきましたけれども、実は骨壊死というのは、そういう時期よりさかのぼった以前に起こっておりまして、そのときの全身状態を

知る必要があります。

〔伊丹〕 なかなか骨頭壊死の病因を探ることは大変難しいと思うのですが、思うところにnecrosigを起こさせてくるという

ころまでは、かなりの年数がかかるのではないかと思います、ひとつ頑張っていたきたいと思います。どうもありがとうございました。（拍手）